

## **О Т З Ы В**

**официального оппонента на диссертацию  
АГАМАЛЯН ИСКУИ ГАМЛЕТОВНА**

**на тему:**

### **ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫЕ ЭФФЕКТЫ НИКОТИНОИЛ L-ПРОЛИНА ПРИ ОСТРЫХ И ХРОНИЧЕСКИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЯХ КРОВΟΣНАБЖЕНИЯ МОЗГА**

**представленной на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук по специальности  
14.00.14 - «Фармакология»**

Диссертация Агамалян Искуи Гамлетовны посвящена изучению цереброваскулярных эффектов никотиноил L-пролина в условиях острого и хронического экспериментального нарушения мозгового кровообращения.

В своей работе диссертант поставил перед собой глобальную цель - провести сравнительное комплексное изучение фармакологической активности вновь синтезированных коротких пептидов, содержащих ГАМК и никотиновую кислоту. Для достижения поставленной цели диссертантом была определена и успешно решена последовательная цепь многочисленных задач:

- изучение изменений локального мозгового кровотока под влиянием никотиноил L-пролина в условиях острой ишемии, вызванной перевязкой общей сонной артерии, и хронической ишемии, вызванной ограничением двигательной активности,
- изучение изменения системного артериального давления и частоты сердечных сокращений под влиянием никотиноил L-пролина,
- оценка изменения капиллярной сети коры головного мозга под влиянием никотиноил L-пролина, обусловленные влиянием мозгового кровообращения,
- исследование механизмов цереброваскулярного действия никотиноил L-пролина через его влияние на сократимость изолированных сосудов,
- исследование антигипоксических эффектов никотиноил L-пролина на различных моделях кислородного голодания.

Актуальность выбранной темы несомненна, учитывая то, что выявленная цереброваскулярная активность никотиноил L-пролина открывает перспективы его дальнейшего доклинического изучения в качестве средства регуляции как острых, так и хронических нарушений мозгового кровообращения.

На основе выявленного антигипоксанта эффекта никотиноил L-пролина могут быть разработаны новые антигипоксанта для лечения различных поражений головного мозга.

Хотя смертность от цереброваскулярных расстройств имеет тенденцию к снижению, она продолжает занимать лидирующее место в тотальной структуре инвалидности, регистрируемой от всех заболеваний. Более того, в экономически развитых странах, в связи с малоподвижным образом жизни, из года в год наблюдается омоложение цереброваскулярных поражений, а большинство людей, перенесших ишемический инсульт, лишаются возможности полноценно вернуться к нормальной жизни.

Все это обосновывает важность разработки и создания новых, эффективных средств фармакологической коррекции нарушений мозгового кровообращения, особенно препаратов с нейропротекторными свойствами, которые будут способствовать коррекции и предупреждению последствий цереброваскулярных нарушений, способствуя улучшению качества жизни.

В последние годы особое внимание уделяется соединениям эндогенного происхождения и лекарственным препаратам, созданным на их основе, поскольку участие ряда биологически активных соединений мозговой ткани в регуляции мозгового кровообращения убедительно доказано. Так, показаны свойства ГАМК, глицина, пролина, стимулирующие мозговое кровообращение и регулирующие метаболизм мозга. Ряд лекарственных препаратов, созданных на основе этих соединений, в том числе пептидов с нейропротекторной активностью, доказали свою эффективность в коррекции нарушений мозгового кровообращения и их неврологических последствий.

Всё это послужило основанием для изучения дисертантом цереброваскулярной активности нового соединения – никотиноил L-пролина, поскольку как пролин, так и никотиновая кислота обладают очень широким спектром биологической активности, включая нейропротекторное, антиоксидантное, ноотропное, антиагрегантное, антигипоксическое, нейропротекторное, что было доказано за последние 5-6 лет рядом исследователей.

Основное научно-практическое значение диссертации состоит в том, что в рамках диссертационной работы, выявленная цереброваскулярная активность никотиноил L-пролина открывает перспективы его дальнейшего доклинического изучения в качестве средства регуляции как острых, так и хронических нарушений мозгового кровообращения. На основе выявленного антигипоксанта действия никотиноил L-пролина могут быть разработаны новые антигипоксанта для лечения различных поражений головного мозга.

Диссертация написана на армянском языке, объем 125 страниц и состоит из следующих основных разделов: введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты исследования и их обсуждение, резюме, выводы, список использованной литературы (210 источников). Результаты исследования и проанализированные данные представлены на 31 рисунке и 3 таблицах.

Обзор литературных данных (с. 39-52) представляет собой критический анализ данных литературы об исследовании ишемического повреждение головного мозга и описании потенциальных фармакологических мишеней для его коррекции. Далее раскрывается влияние физической гиподинамии как фактора риска цереброваскулярных заболеваний.

В конце главы диссертантом проведен анализ имеющихся данных и перспективы использования эндогенных пептидов и их структурных синтетических аналогов для коррекции цереброваскулярной и нейропротекторной терапии.

В данной главе очень хорошо и подробно описаны фармакологические свойства пролина, что также проиллюстрировано несколькими рисунками, схемами и диаграммами.

В главе «Материалы и методы» (с.39-71) представлены данные об аналитических, фармакологических методах, использованных в диссертации, дана характеристика использованного оборудования. Приведены методики проведения моделирования острого кровоизлияния в мозг, моделирование хронических нарушений мозгового кровообращения, измерения локального мозгового кровотока методом лазерной доплеровской флоуметрии, измерения системного артериального давления у крыс неинвазивным методом «хвостовой манжеты», исследование микроциркуляторного русла коры головного мозга крыс методом с использованием аденозиндифосфата кальция, изучение сократительной активности изолированного сосуда, а также изучение антигипоксической активности при различных моделях кислородного голодания.

Все исследования были проведены в соответствии с требованиями, утвержденными этическим комитетом ЕГМУ. Глава прекрасно оформлена и дополнена понятными фотографиями.

В главе, включающую в себя представление собственных результатов (с.54-89) подробно приведены результаты следующих исследований.

Исследование влияния никотиноил L-пролина на кровоснабжение мозга крыс методом лазерной доплеровской флоуметрии, что позволило выявить его цереброваскулярную активность. Так, в условиях острой ишемии, вызванной окклюзией левой сонной артерии, когда отмечается снижение коркового кровотока на 34,5% по сравнению с исходным уровнем, внутрибрюшинное (в/б) введение дипептида в дозе 10 мг/кг сопровождается



увеличением кровоснабжения мозга на 45% по сравнению с ишемическим показателем. Способность никотиноил L-пролина стимулировать мозговое кровообращение была зарегистрирована также и на модели хронической ишемии, вызванной 15-дневным ограничением двигательной активности крыс. Согласно данным доплерографии введение исследуемого дипептида (в/б, 10 мг/кг) в указанных условиях способствует повышению локального кровотока коры головного мозга на 41%. При этом регистрация параметров системного артериального давления неинвазивным методом «Tail-cuff» показало, что цереброваскулярные эффекты препарата не сопровождаются существенными сдвигами со стороны систолического и диастолического давлений, а также частоты сердечных сокращений животных.

Цереброваскулярная активность никотиноил L-пролина была подтверждена при изучении микроциркуляторного русла коры головного мозга крыс кальций-аденозинтрифосфатным методом. В условиях острой ишемии после введения исследуемого дипептида отмечается уменьшение среднего диаметра капилляров коры головного мозга в исследуемых полях как в левом, так и в правом полушариях на 45% и 41% соответственно. Одновременно, регистрируется уменьшение числа функционирующих и увеличение числа суженных капилляров, а количество проницаемых только для плазмы капилляров возрастает почти в 10 раз. При введении препарата в дозе 10 мг/кг на фоне ишемии отмечается увеличение среднего диаметра капилляров, которое через 60 минут после введения препарата составляет 54% и 44% по сравнению с ишемическими значениями в левом и правом полушариях соответственно. При этом отмечается увеличение числа функционирующих капилляров от 2-х до 3-х раз в зависимости от диаметра капилляров, снижение количества суженных капилляров в среднем на 33%, и уменьшение числа проницаемых только для плазмы капилляров на 75% по сравнению с ишемическими показателями.

Вазоактивность никотиноил L-пролина была подтверждена в исследованиях *in vitro* при изучении влияния дипептида на сократительную способность изолированных лоскутов сосудов. Результаты анализа показали, что исследуемый препарат обладает способностью ослаблять норадреналиновую контрактуру сосудов. Введение в инкубационную среду с фиксированным изолированным сосудистым лоскутом  $1 \times 10^{-6}$  М раствора норадреналина сопровождается выраженным сокращением сосуда, после чего регистрируется спонтанное расслабление спазма на 30% через 60 минут после действия анализатора. При добавлении в инкубационную среду раствора никотиноил L-пролина в эквивалентной концентрации на пике норадреналинового спазма отмечается расслабление сокращений на 45%. При повышении концентрации дипептида до  $2 \times 10^{-6}$  М и  $2 \times 10^{-5}$  М в тех же условиях уменьшение

норадренинового спазма составляет 60% и 70% соответственно. Сравнительный анализ цереброваскулярной активности препарата с эффектами его структурного аналога никотиноил ГАМК-а (Пикамилон), показал, что по влиянию на мозговой кровоток *in vivo* превалирует действие пролинового производного никотиновой кислоты, в то время как по действию на сократительную способность изолированных сосудов *in vitro* превосходит ГАМК производное никотиновой кислоты.

Данные относительно цереброваскулярной активности никотиноил L-пролина послужили основой для изучения его антигипоксантажного действия. Исследования с применением трех различных моделей экспериментальной гипоксии у мышей (нормобарической, гемической и цитотоксической) позволили выявить антигипоксантажное действие препарата в модели гемической гипоксии, вызванной введением нитрита натрия (в/б в дозе 300 мг/кг). Введение никотиноил L-пролина в указанной модели за 70 минут до введения нитрита натрия сопровождалось увеличением выживаемости животных на 28,53%.

Разделы «Заключение» и «Выводы» отражают суть и содержание полученных диссертантом результатов. Диссертационная работа является законченным исследованием, изложенные в ней результаты имеют несомненную научную новизну и практическую значимость.

Работа выполнена на высоком научном и техническом уровне, с использованием современного оборудования, качественных методик. Полученные результаты и выводы подтверждены большим массивом собственных экспериментальных данных, их правильность не вызывает сомнений.

Автореферат адекватно передает содержание диссертации.

Количество опубликованных работ, апробация полученных результатов на научных конференциях являются достаточными для кандидатской диссертации.

Существенных замечаний к работе не имеется, однако к диссертанту имеется ряд вопросов и пожеланий.

1. В обзоре литературы можно было сосредоточиться на более подробном описании препаратов, которые были выбраны диссертантом в качестве препаратов сравнения. При этом желательно было не ограничиваться только анализом их фармакологических, но и физико-химических свойств.

2. Желательно было чтобы в подписях к графикам автор привел бы статистический метод, которым обрабатывались результаты, как это требуют большинство рецензируемых журналов, что сделало бы понятным почему статистическая значимость разницы в результатах отличается по степени достоверности (в частности с. 55 и 57)

3. Автор указывает, никотиноил-L-пролин оказывает более выраженное стимулирующее действие на мозговое кровообращение в сравнении с никотиноил-ГАМК. Такое различие автор объясняет более высокой липофильностью никотиноил-L-пролина по сравнению с никотиноил-ГАМК, поскольку молекула никотиноил-ГАМК более поляризована, чем молекула никотиноил-L-пролина. Однако в диссертации я не нашел ни одной ссылки на литературные или на собственные данные по исследованию липофильности никотиноил-L-пролина и никотиноил-ГАМК и фактически данное утверждение выглядит научно не обоснованным.

4. По тексту диссертации, включая список литературы, имеется ряд опечаток и ошибок.

Указанные замечания и пожелания не являются принципиальными, в основном касаются оформления диссертации и не снижают положительное впечатление об уровне диссертационной работы

По научному уровню, актуальности, содержанию, объему, полученным результатам она отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Таким образом, диссертационная работа Агамалян Искуи Гамлетовны на тему: «Цереброваскулярные эффекты никотиноил L-пролина при острых и хронических экспериментальных нарушениях кровоснабжения мозга по специальности: 14.00.14 - «Фармакология» является фактически законченным научным исследованием, отвечает всем требованиям 7 пункта ВАК РА, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а диссертант заслуживает присуждения ему степени кандидата фармацевтических наук.

доктор биологических наук,  
профессор



Оганесян Арег Спартакovich

Подпись Оганесяна Арега Спартакovichа

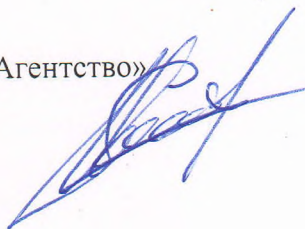
ЗАВЕРЯЮ

и.о. Директора «Антидопинговое Агентство»

ГНКО РА

«27» октября 2025 г

М.П.



Мосинян Давит Норайрович